

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
17. April 2003 (17.04.2003)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 03/030965 A2

(51) Internationale Patentklassifikation⁷: **A61M 1/00**

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/DE02/03465

(22) Internationales Anmeldedatum:
16. September 2002 (16.09.2002)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
101 47 639.6 27. September 2001 (27.09.2001) DE

(71) Anmelder und

(72) Erfinder: **SCHOLZ, Martin** [DE/DE]; Klinik für THG-
Chirurgie, Theodor-Stern-Kai 7, 60590 Frankfurt (DE).

(74) Anwalt: **STREHL, SCHÜBEL-HOPF & PARTNER**;
Maximilianstrasse 54, 80538 München (DE).

(81) Bestimmungsstaaten (*national*): AF, AG, AI., AM, AT,
AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR,
CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE,

GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR,
KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK,
MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU,
SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG,
US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) Bestimmungsstaaten (*regional*): ARIPO-Patent (GH,
GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW),
eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ,
TM), europäisches Patent (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE,
DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT,
SE, SK, TR), OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA,
GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Erklärung gemäß Regel 4.17:

— *Erfindererklärung (Regel 4.17 Ziffer iv) nur für US*

Veröffentlicht:

— *ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu
veröffentlichen nach Erhalt des Berichts*

*Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen
Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on
Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe
der PCT-Gazette verwiesen.*

(54) Title: ARTIFICIAL LYMPH NODE

(54) Bezeichnung: KÜNSTLICHER LYMPHKNOTEN

(57) Abstract: The invention relates to an artificial lymph node consisting of a module comprising an inlet and an outlet opening. In said module, a complex consisting of a cell that presents an antigen, MHC and an antigen is immobilised on a carrier. The inventive module can be used for patients or in clinical situations with a defective cellular immune response, e.g. against viral or bacterial infection pathogens or tumour antigens.

(57) Zusammenfassung: Die vorliegende Erfindung betrifft einen künstlichen Lymphknoten, bestehend aus einem Modul mit einer Einlass- und Auslassöffnung, wobei in dem Modul auf einem Träger ein Komplex aus Antigen-präsentierender Zelle, MHC und Antigen immobilisiert ist. Das erfindungsgemäße Modul kann bei Patienten bzw. klinischen Situationen mit mangelnder zellulärer Immunantwort z.B. gegen virale oder bakterielle Infektionserreger oder Tumorantigene eingesetzt werden.



WO 03/030965 A2

Künstlicher Lymphknoten

Gebiet der Erfindung

Die vorliegende Erfindung betrifft einen künstlichen Lymphknoten und ein Verfahren zum Aktivieren von Immunzellen.

Hintergrund der Erfindung

Es existiert derzeit keine ausreichend funktionierende Therapie gegen virale chronische Infektionserkrankungen. Die Chronizität basiert auf der persistierenden Präsenz des viralen Antigens im Gewebe und der unzureichenden Immunantwort dagegen. Virale Erkrankungen werden zumeist mit Chemotherapeutika therapiert. Dies hat häufig Resistenzbildung der Viren und starke Nebenwirkungen zur Folge. Bisherige Experimente mit der ex vivo Stimulation von Effektorzellen mittels dendritischer Zellen (DC) z.B. bei Tumorerkrankungen waren nur bedingt erfolgreich. Vermutlich ist die ex vivo-Stimulation der Effektorzellen und die anschließende Rückfuhr in den Patienten zu störanfällig und zu schwach, um klinisch relevante Veränderungen zu induzieren. Darüber hinaus werden bei den derzeitig angewandten Methoden die Gedächtniszellen isoliert, die in sehr geringer Menge im Blut vorkommen. Die ex vivo Expansion dieser Zellen ist dabei ein weiterer störanfälliger Schritt.

Der Erfindung zugrunde liegende Aufgabe

Ziel der vorliegenden Erfindung ist es, ein Modul bereitzustellen, das geeignet ist, Immunzellen zu aktivieren. Außerdem soll ein Verfahren unter Einsatz des Moduls zur Verfügung gestellt werden.

Gegenstand der Erfindung

Die der vorliegenden Erfindung zugrunde liegende Aufgabe wird durch den künstlichen Lymphknoten nach Anspruch 1 gelöst. Dieser künstliche Lymphknoten besteht aus einem Modul

mit einer Einlaß- und Auslaßöffnung, wobei in dem Modul auf einem Träger ein Komplex aus Antigen-präsentierender Zelle, MHC und Antigen immobilisiert ist. Das erfindungsgemäße Modul kann bei Patienten bzw. klinischen Situationen mit mangelnder zellulärer Immunantwort z.B. gegen virale oder bakterielle Infektionserreger oder Tumorantigene eingesetzt werden.

Das erfindungsgemäße Modul kann beispielsweise in den Blutstrom des Patienten eingesetzt werden. Eine bevorzugte Ausführungsform besteht darin, daß das Modul mit autologen dendritischen Zellen plus MHC-Antigen-Komplex (beispielsweise Tetramere) mit spezifischen immunrelevanten Peptiden zum transienten Einbringen in den Patienten-Blutstrom über einen Shaldon-Katheter eingesetzt wird. Dadurch binden zirkulierende Peptid-spezifische T-Zellen an die Tetramere im Modul und gelangen so in Kontakt mit den DC. Die Effektorzellen mit nur unzureichender spezifischer Funktion werden stimuliert und verlassen als hoch aktive Zellen das Modul. CD4- und CD8-Gedächtniszellen, die zuvor Kontakt mit dem natürlichen Peptid hatten, binden ebenfalls an die Tetramere und/oder an die DC. Auch diese bereits geprägten Zellen werden stark aktiviert. Weiterhin binden ungeprägte (naive) T-Zellen an die DC und werden gegen das präsentierte Peptid geprüft. Durch die ko-stimulatorischen Faktoren im Modul (z.B. DC-Adhäsionsmoleküle, Zytokine etc.) kommt es zur Aktivierung dieser Zellen, die zurück in den Blutkreislauf gelangen, um dort bzw. nach Extravasation im erkrankten Gewebe mittels spezifischer Effektormechanismen das Pathogen zu eliminieren. Die Induktion einer humoralen Immunreaktion kann sich anschließen (T-Zell vermittelte B-Zellaktivierung).

Die Vorteile der Erfindung gegenüber den herkömmlichen Verfahren sind, daß die Erfindung die de novo Induktion bzw. Verstärkung einer hoch spezifischen Immunantwort gegen das Pathogen erlaubt.

Durch die Kombination der Peptid-präsentierenden DC mit den MHC/Peptid-Konstrukten können bereits geprägte Immunzellen spezifisch in ihrer Immunantwort verstärkt werden. Die

in niedriger Frequenz im Blut enthaltenen Zellen müssen nicht aufwendig isoliert und ex vivo expandiert werden, da die Zellen über den Blutstrom automatisch in den Filter gelangen. Nur diejenigen Zellen, die bereits Kontakt mit dem Peptid hatten, binden an die MHC-Antigen-Komplexe (mit Peptid beladene Tetramere, Bimere bzw. Trimere) und werden mit Hilfe der Ko-Stimulation durch die benachbarten DC ausreichend aktiviert. Nach ihrer Aktivierung gehen die Effektorzellen direkt in den Blutkreislauf und in die betroffenen Gewebe. Ähnlich ist es bei der Prägung naiver Zellen, die primär nicht mit den MHC-Antigen-Komplexen, jedoch mit den Antigen-tragenden DC interagieren und geprägt werden. Durch die physiologische Umgebung im Blutstrom ist gewährleistet, daß alle notwendigen Faktoren für eine Ausreifung zu hochaktiven Effektorzellen vorhanden sind. Somit umfaßt der Ausdruck "Aktivierung" in der vorliegenden Erfindung sowohl die Erhöhung der Aktivität bereits aktivierter Immunzellen als auch die Prägung noch ungeprägter Immunzellen.

Ein weiterer Vorteil des erfindungsgemäßen Lymphknotens ist die hohe erreichbare Dichte der DC im Modul. Ein zusätzlicher Vorteil ist, daß im Gegensatz zur ex vivo-Stimulation der Effektorzellen keine große Menge an Effektorzellen für die Rückgabe in den Patienten angereichert werden muß. Defekte, die eine Ansiedlung der DC in den natürlichen Lymphknoten des Patienten verhindern, können mit Hilfe des erfindungsgemäßen Lymphknotens umgangen werden.

Der erfindungsgemäße künstliche Lymphknoten kann darüber hinaus zur Toleranzinduktion bei Patienten mit pathologisch erhöhten Immunreaktionen gegenüber natürlichen Antigenen (Allergien) oder körpereigenen Strukturen (Autoimmunerkrankungen) eingesetzt werden. Als Beispiele seien genannt:

- Patienten mit chronischer Hepatitis B Erkrankung
- Asthma, Neurodermitis, Heuschnupfen
- Multiple Sklerose.

Der erfindungsgemäße künstliche Lymphknoten besteht vorzugsweise aus einem Gehäuse mit z.B. 10 cm Durchmesser. Die Einström- und Ausströmstutzen sind in ihrem Durchmesser angepaßt an die Schlauchverbindungen der Katheter-Anschlüsse. Im Innern des Moduls befindet sich ein Träger, beispielsweise eine dreidimensional gefaltete Polyestermembran mit modifizierter Oberfläche, zur Aufbringung von MHC-Antigen-Komplexen (Bimere, Trimere, Tetramere) mit immunrelevanten (immunogenen) Peptiden, isoliert aus z.B. Viren-, Bakterien- oder Tumorzellpräparationen. Vorzugsweise werden auf den Träger dendritische Zellen (DC) des Patienten (autologe Zellen) aufgetragen, die zuvor ex vivo mit den entsprechenden Peptiden und/oder mit z.B. Viruspräparationen behandelt wurden. Die Vorbehandlung der DC schließt die immunologische Ausreifung der DC in verschiedenen Weisen ein. So kann eine Peptid-spezifische Immunantwort, aber auch die Toleranz gegenüber einzelnen Peptiden nach Wunsch induziert werden.

Patentansprüche

1. Künstlicher Lymphknoten, bestehend aus einem Modul mit einer Einlaß- und Auslaßöffnung, wobei in dem Modul auf einem Träger ein Komplex aus Antigen-präsentierender Zelle, MHC und Antigen immobilisiert ist.
2. Künstlicher Lymphknoten nach Anspruch 1, worin die Antigen-präsentierende Zelle eine dendritische Zelle ist.
3. Künstlicher Lymphknoten nach Anspruch 2, worin die dendritische Zelle eine ausgereifte dendritische Zelle ist.
4. Künstlicher Lymphknoten nach Anspruch 2 oder 3, worin die dendritische Zelle mit dem Antigen einen Komplex bildet, mit dem sie vor Komplexbildung behandelt worden ist.
5. Künstlicher Lymphknoten nach einem der vorstehenden Ansprüche, worin der MHC-Antigen-Komplex als Tetramer vorliegt.
6. Verfahren zur Aktivierung von Immunzellen, dadurch gekennzeichnet, daß die in einer Körperflüssigkeit enthaltenen Immunzellen in einem künstlichen Lymphknoten nach einem der Ansprüche 1 bis 5 mit dem Komplex aus Antigen-präsentierender Zelle, MHC und Antigen kontaktiert wird.
7. Verfahren nach Anspruch 6, wobei die Antigen-präsentierende Zelle eine autologe dendritische Zelle ist.